



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique
Université de Tissemsilt



Faculté des Sciences et de la Technologie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Présentée par : Sebai hanane

Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme
de Master académique en

Filière : **biologie**

Spécialité: **biochimie appliquée**

Thème

**Dosage des alpha amylase de deux variétés de blé au
cours de la germination**

Soutenu le,.....

Devant le Jury :

Mr Chouhim Kada	Président	M.A.A.	Univ-Tissemsilt
Mme Bensaadi Nawal	Encadreur	M.A.A.	Univ-Tissemsilt
Mr Zemour Kamel	Examineur	M.A.B.	Univ-Tissemsilt

Année universitaire: 2020-2021

Résumé

Le travail réalisé porte sur le dosage des alpha-amylase dans deux cultivars de blé (Mohammed ben Bachir et Boussallem) au stade de la germination.

Le processus d'imbibition dépend entièrement des types de graines utilisées. Le cultivar Mohammed ben Bachir a enregistré la valeur d'absorption d'eau la plus élevée par rapport au cultivar Boussallem.

L'aspect biochimique représenté par l'activité enzymatique des α -amylases montre que lors de la germination ces enzymes sont disponibles et que leur activité augmente avec le temps de germination. Les graines germées après 24 heures ont enregistré une valeur plus élevée pour Mohammed ben Bachir 1115,78 $\mu\text{mol}/\text{min}$ que pour Boussallem 791.044 $\mu\text{mol}/\text{min}$. Et les résultats ont montré qu'après 48 heures, le taux d'amylase était plus pour Mohammad ben Bachir 1899, 64 $\mu\text{mol}/\text{min}$ par rapport au type Boussallem 1468 $\mu\text{mol}/\text{min}$. De sorte que les graines germées après 48 heures ont enregistré une valeur plus élevée qu'après 24 heures dans les deux types. L'activité de l'amylase reste liée à la nature des génotypes étudiés.

L'hydrolyse de l'amidon et la libération de sucres solubles simples présente une haute valeur dans le génotype Mohammed ben Bachir 2.90 mg/g MS versus le génotype Boussallem 2.11 mg/g MS.

Mots clés : blé, germination, amidon, α -amylases, activité amylasique, sucre soluble

Summary

The executed work deals with the dose of alpha-amylase in two wheat cultivars (Mohammed ben Bachir and Boussallem) during the germination stage.

The process of imbibition depends entirely on the types of seeds used. The Mohammed ben Bachir cultivar recorded the highest water absorption value compared to the Boussallem cultivar.

The biochemical aspect represented by the enzymatic activity of α -amylases shows that during germination these enzymes are available and that their activity increases with the time of germination. The seeds sprouted after 24 hours recorded a higher value for Mohammed ben Bachir 1115,78 $\mu\text{mol}/\text{min}$ than for Boussallem 791.044 $\mu\text{mol}/\text{min}$. And the results showed that after 48 hours, the amylase rate was more for Muhammad ben Bachir 1899, 64 $\mu\text{mole}/\text{min}$ with regard to the type Boussallem 1468 $\mu\text{mol}/\text{min}$. So that the germinated seeds after 48 hours recorded a higher value than after 24 hours in both types. The activity of amylase remains related to the nature of the studied genotypes.

Starch hydrolysis and release of simple soluble sugars shows high value in Mohammed ben Bachir 2.90 mg / g DM genotype versus Boussallem 2.11 mg / g DM genotype.

Key words: wheat, germination, starch, α -amylases, amylase activity, soluble sugar

ملخص

يتناول العمل المنفذ جرة ألفا أميليز في صنفين من القمح (محمد بن بشير وبوسالم) خلال مرحلة الإنبات.

تعتمد عملية التثريب كلياً على أنواع البذور المستخدمة. سجل صنف محمد بن بشير أعلى قيمة لامتصاص الماء مقارنة بصنف بوسالم.

يوضح الجانب الكيميائي الحيوي الذي يمثله النشاط الأنزيمي لـ α -amylases أنه أثناء الإنبات تتوفر هذه الإنزيمات وأن نشاطها يزداد مع وقت الإنبات. سجلت البذور المنبئة بعد 24 ساعة قيمة أعلى بالنسبة للنوع محمد بن بشير $1115,78 \mu\text{mol}/\text{min}$ عكس النوع بوسالم $791.044 \mu\text{mol}/\text{min}$. و أظهرت النتائج انه بعد 48 ساعة تكون نسبة الاميلاز اكثر بالنسبة لمحمد بن بشير $1899, 64 \mu\text{mol}/\text{min}$ بالنظر للنوع بوسالم $1468 \mu\text{mol}/\text{min}$. بحيث سجلت البذور المنبئة بعد 48 ساعة قيمة اعلى من بعد 24 ساعة في كلا النوعين. يظل نشاط الأميليز مرتبطاً بطبيعة الأنماط الجينية المدروسة.

أظهر التحلل المائي للنشا وإطلاق السكريات القابلة للذوبان البسيطة قيمة عالية في

التركيب الوراثي لمحمد بن بشير $2.90 \text{ mg}/\text{g MS}$ مقابل بوسالم $2.11 \text{ mg}/\text{g MS}$

الكلمات المفتاحية: القمح ، الإنبات ، النشا ، ألفا الأميليز ، نشاط الأميليز ، السكر القابل للذوبان.

Remerciements

Je remercie avant tout **Allah**, tout puissant, pour la volonté, la santé et la patience qu'il m'a donnée et le courage pour terminer ce travail.

Je tiens à remercier en particuliers ma directrice de Mémoire **Mme Bensaadi Nawel** pour m'avoir encadré tout le long de ce travail, pour sa disponibilité et ses qualités scientifiques dont j'ai profité.

J'exprime mes remerciements aux honorables membres du jury

Mr Chouhim Kada pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

Mr Zemour Kamel de m'avoir accordé le temps et la patience pour évaluer mon travail.

J'adresse mes remerciements aux personnels du laboratoire de l'université de Tissemsilt.

Une gratitude à tous mes enseignements, je ne saurais vous remercier pour tout ce que j'ai appris avec vous.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à des êtres qui me sont très chers, et sans lesquelles je n'aurais jamais atteint le stade où je suis actuellement

*A ma précieuse perle, celui qui m'a guidé vers la voie de la réussite,
pour ses conseils et ses encouragements.*

A mon père

A ma maman, Toi qui m'as éclairé mon chemin et qui m'as encouragé, Toi qui as supporté tant de choses pour moi

Je dédie également ce mémoire

À mon très cher mari.

A ma très chère sœur.

A mes très chers frères

A toute ma famille

A toute mes amies et à tout membre de ma promotion

HANANE

Listes des figures

Figure 01 : Origines et généalogie du blé	5
Figure 02: Histologie du grain de blé.....	8
Figure 03: Courbe théorique de la germination.....	11
Figure 04 : représentation des structure secondaire et tertiaire de l'alphaamylase.....	16
Figure05 : les deux variétés de blé (originale).....	23
Figure 06 : la quantité d'eau absorbés par les graines de Mohamed ben Bachir en fonction du temps d'imbibition selon trois répétition.....	27
Figure 07: la quantité d'eau absorbée par les graines de Boussallem en fonction du temps d'imbibition selon trois répétitions.....	28
Figure 08 : évolution du taux d'hydrolyse de l'amidon en maltose chez les deux génotype après 24 heure de mise en germination.....	30
Figure 09 : évolution du taux d'hydrolyse de l'amidon en maltose chez les deux génotype après 48 heure de mise en germination.....	31
Figure 10 : évolution du taux d'hydrolyse de l'amidon en maltose chez les deux génotype après 24 et 48 heure de germination.....	32
Figure 11 : évolution moyenne de la teneur en sucres solubles des graines en fonction de génotype.....	33
Figure 12 : relation entre la faculté germinative et la nature de génotype.....	34

Liste des tableaux

Tableau01: Différentes nomenclatures d' α amylase.....	16
Tableau 02 : Utilisation des amylases dans divers secteurs de l'industrie.....	19
Tableau03 : Caractéristiques générales des deux variétés de blé étudiées.....	22
Tableau 04 : Analyse de variance de l'activité des α -amylases après 24h de la mise en germination.....	29
Tableau 05. Analyse de variance de l'activité des α -amylases de graines germées après 48h de la mise en germination.....	30
Tableau 06 : analyses des résultats de l'activité amylasique en fonction du temps de mise en germination.....	31
Tableau 07 : Effet du génotype sur le teneur en sucres solubles des graines en germination...	34

Liste des abréviations

Ca : calcium.

CaCl₂ : chlorure de calcium.

Cd: cadmium.

Cl: chlore .

Cu : cuivre.

Fig: Figure.

g: gramme.

Hg: mercure.

K:potassium.

l:litre.

mbb; mohamed ben bachir

MgSO₄: sulfate de magnesium.

min :minute.

ml:mililitre.

mM : milimole.

MS: matière sèche.

Na: sodium.

NaOH: hydroxyde de sodium.

nm : nanomètre.

pH : potentiel hydrique.

SPSS: statistical package of social science

Tab: tableau.

°C: degrés Celsius.

µmol : micromol.

% : pourcentage.

Table des matières

Liste des figures

Liste des tables

Liste des abréviations

Introduction.....1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Le blé

Le blé.....	5
1.-Définition et origine.....	5.
2-Classification.....	6.
3-Biologie du blé.....	6
3-1-Le système racinaire.....	6
3-2-le système aérien.....	6
3-2-1-Les feuilles	6
3-2-2Les inflorescences.....	6
4-Cycle de développement.....	7
4-1 -Période végétative.....	7
4-2 -Période reproductrice	7
4-3-Période de maturation.....	7
5-Structure et composition du grain de blé.....	7
5- 1-L'embryon (ou germe).....	8
5-2-L'endosperme.	8
5-3-Les enveloppes.....	8

Chapitre II La Germination

II-La germination.....	10
1-Mécanismes de la germination.....	11
1-1 La première phase.....	12
1-2-La deuxième phase.....	12
1-3-La troisième phase.....	12
2-Conditions de la germination.....	12
2-1-L'eau.....	12
2-2- la température.....	12
2-3- L'oxygène.....	13
2-4 La lumière.....	13

Chapitre III L' α -amylase

L' α -amylase.....	15
1-Structure des α amylase.....	16
2-Nomenclature.....	16
3-Sources des α -amylases.....	17
4-L'activité alpha amylase.....	17
5-Mécanisme d'action.....	18
5-1 - Attaque aléatoire.....	18
5-2- Attaque préférée.....	18
5-3- Attaque répétitive.....	18
6- Influences du milieu sur l'activité des α -amylases.....	19
6-1 Effet de la température	19
6-2 Effet du pH.....	19
6-3 Les sources de carbone.....	19
6-4- Les sources d'azote.....	19
6-5- Effet des ions métalliques.....	19

6-6- Effet des métaux lourds.....	20
7-. Utilisation des α -amylases.....	20

Partie expérimentale

Chapitre IV Matériels et méthodes

Objectif de l'expérimentation.....	22
1- matériel végétal.....	22
2-conduite de l'essai.....	23
3-condition de la conduite de l'expérimentation.....	23
3-1 L'aspect physique de la germination des graines.....	23
4- L'aspect biochimique de la germination des graines.....	24
4.1. Dosage de l'activité des α -amylases des graines mises en germination.....	24
a) réalisation de la courbe d'étalonnage.....	24
b) Extraction du complexe enzymatique.....	24
c) Dosage de l'activité des α -amylases.....	25
5- Dosage des sucres solubles.....	25
6-Estimation de la faculté germinative.....	25
7- Traitements statistiques.....	26

Chapitre V Résultats et Discussions

Résultats.....	27
1- test d'Imbibition des graines en germination.....	27
2-L'activité des α -amylase extraites des graines mises en germination.....	29
2-1- activité après 24 heures de mise en germination.....	29
2-2- activité après 48 heures de mise en germination.....	30

2-3- Evolution de l'activité des α -amylases en fonction du temps de mise en germination.....	31
4-Taux des sucres solubles.....	32
5-Estimation de faculté germinative.....	33
Discussions.....	34
Conclusion.....	36

Références bibliographiques

Annexe

Introduction

Introduction

La découverte du blé remonte à 15 000 av. J.-C. dans le Croissant fertile, une vaste région comprenant la vallée du Jourdain, les régions contiguës de la Palestine, de la Jordanie, de l'Irak et de la bordure occidentale de l'Iran (**Feldman et Sears, 1981 ; Mouellef, 2010**)

Sur le marché mondial, l'Algérie demeure toujours parmi les grands importateurs de céréales en particulier le blé dur et le blé tendre du fait de la faible capacité de la filière nationale à satisfaire les besoins de consommation croissantes de la population. En effet, la production locale de céréales ne couvre qu'un peu plus de 30% des besoins du pays (**Smadhi et Zella, 2009 ; Ammar, 2014**).

Les enzymes appartenant à la famille des hydrolases telles que les α -amylases sont parmi les enzymes les plus importantes au niveau industriel, ce qui en fait l'un des principaux outils de la biotechnologie (**Little, 2004**). En effet, le marché mondial des enzymes est représenté par 80% d'hydrolase, surtout amylase et protéase (**Morvan, 2010**).

En Algérie, l'alpha amylase est utilisé dans diverses industries (pain, biscuiterie, amidon, etc.), ce qui nécessite la mise en place d'ateliers locaux pour la production de ces enzymes.

L' α -amylase est présente dans l'embryon ou germe de grains de blé où elle transforme l'amidon en sucre dans le grain en germination, et de même liquéfie les granules d'amidon dans la farine de blé lorsqu'on la mélange à de l'eau pour en faire de la pâte à pains (**Heller et al, 2004**).

Les amylases sont des enzymes qui catalysent l'hydrolyse de l'amidon. Ils ont le rôle de rompre les liaisons glucosidiques spécifiques de l'amidon en présence de l'eau. Cependant, il n'investit que la présence d'une activité enzymatique suffisante, telle que l'alpha-amylase, qui non seulement hydrolyse l'amidon mais est également responsable de la remobilisation des réserves de glucides vers l'embryon. Cependant, une fois la germination commencée, l'embryon et les couches environnantes de l'albumen amylicé produisent l'enzyme à un rythme accéléré. (**Heller et al, 2004**).

Au cours de la germination des grains de céréales, l' α -amylase dans la couche d'aleurone joue un rôle important dans l'hydrolyse de l'amidon de l'endosperme en sucres métabolisables, qui fournissent de l'énergie pour la croissance des racines et des germes (**Akazawa et Hara-Mishimura, 1985 ; Beck et Ziegler, 1989**). L'amylase est produite dans les graines après avoir absorbé l'eau du sol. L'amidon est décomposé en maltose, ce qui facilite le processus de germination.

Le présent travail consiste à évaluer l'activité des α -amylases au cours de la germination de deux variétés de blé. (Variété Mohamed ben Bachir et variété Boussallem).

Synthèse bibliographique

Chapitre I

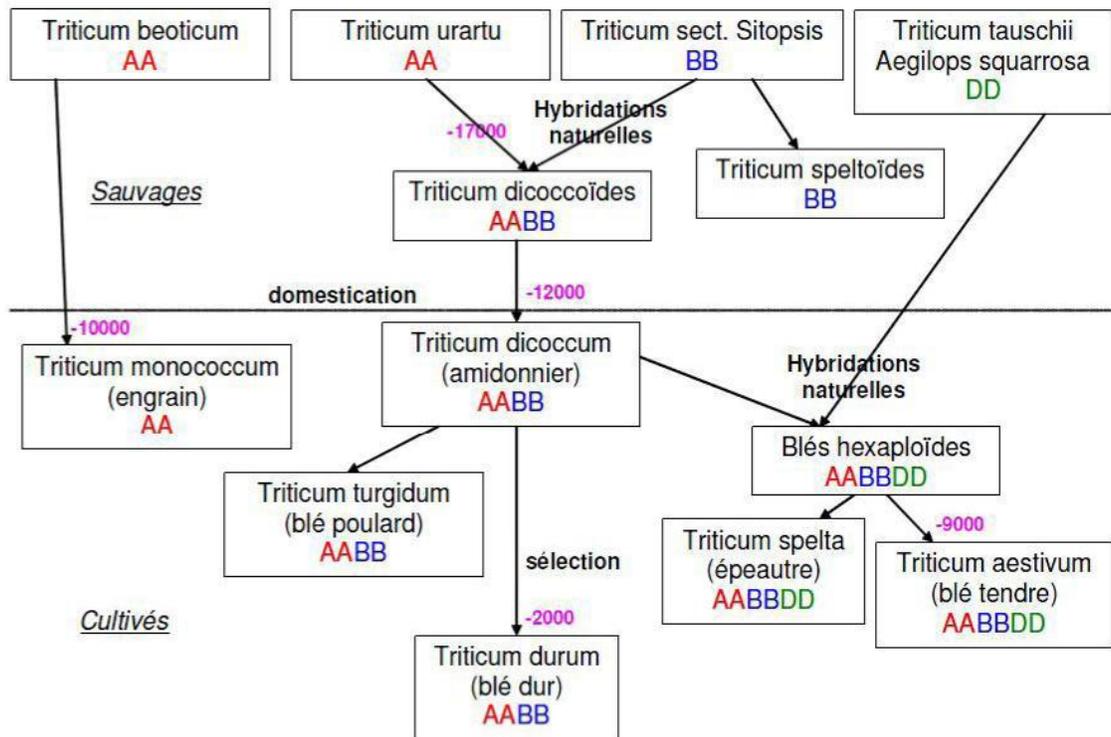
Le Blé

I-Blé

1.-Définition et origine

Le blé est une herbacée autogame de la famille des *Poaceae* appartenant au genre *Triticum*. Cette plante annuelle produit un fruit sec indéhiscent, le caryopse. Le blé tendre (*Triticum aestivum*) et le blé dur (*Triticum durum*) sont les deux espèces les plus cultivées dans le monde (Bolot et al., 2009 ;Feuillet, 2000).

Le blé tendre (*Triticum aestivum*) et le blé dur (*Triticum durum*) sont les deux espèces les plus cultivées dans le monde. Le blé tendre est constitué de trois génomes possédant chacun 7 paires de chromosomes homéologues, soit 42 chromosomes au total. Il possède une structure génomique hexaploïde (AA BB DD) et le blé dur une structure tétraploïde (AA BB) (Chapman, 2009)



(AA, BB, DD : génomes ; -10000 : nombre d'années avant l'histoire).

Figure 01 : Origines et généalogie du blé (Naville, 2005).

2-Classification

Selon **Feuillet (2000)**, le blé est une herbacée annuelle, appartenant au groupe des céréales à paille, classée de la manière suivante :

Embranchement	Spermaphytes
S/Embranchement	Angiospermes
Classe	Monocotylédones
Ordre	Poales
Famille	Graminacées
Genre	Triticum
Espèce	<i>Triticum durum</i> / <i>Triticum aestivum</i>

3-Biologie du blé

Le blé est une herbacée autogame, de hauteur moyenne avec des inflorescences en épi terminal (**Soltner, 1990**).

3-1-Le système racinaire est composé de deux systèmes successifs: des racines primaires ou séminales, fonctionnelle de la levée au début du tallage et des racines secondaires ou de tallage (ou coronales) qui apparaissent au moment où la plante émet ses talles et se substituent progressivement aux précédentes (**Soltner, 1990**).

3-2-Le système aérien est constitué d'une tige cylindrique dressée, décomposée en ramification appelée thalles formés à partir des bourgeons auxiliaires des noeuds. Chaque talle est formée d'une tige feuillée ou chaume portant à son extrémité une inflorescence.

3-2-1-Les feuilles Alternes, longues avec des nervures parallèles reliées à la tige par une gaine.

3-2-2Les inflorescences Composées d'épis, chaque épi est muni d'un rachis portant des épillets séparés par de courts entre-noeuds (**Bozzini, 1988**). Les épillets comptent deux glumes (bractées) renfermant de deux à cinq fleurs distiques.

4-cycle de développement

Selon (**Gate, 1995 ; Soltner, 2007**) Le cycle de développement du blé présente trois phases distinctes marquées par des stades repères:

4-1-Période végétative correspondant à la mise en place de la plante. Elle s'étend de la germination en passant par le tallage jusqu'à l'ébauche de l'épi

4-2 -Période reproductrice, comprenant la formation et la croissance de l'épi. Elle s'étend du stade montaison au stade floraison

4-3-Période de maturation, marquée par l'arrêt de la croissance des feuilles et des tiges. Les produits de l'activité photosynthétique sont dirigés par remobilisation, vers le grain. Ce dernier grossit, met en place ses enveloppes et accumule des éléments nutritifs.

5-Structure et composition du grain de blé

Le grain de blé est constitué de 3 grandes parties : le germe, l'albumen et les enveloppes Il est constitué majoritairement d'amidon qui représente environ 70% de la matière sèche du grain et qui est situé dans l'albumen. Les protéines représentent entre 10 et 15% de la matière sèche et se retrouvent dans tous les tissus du grain de blé avec une concentration plus importante dans le germe et la couche à aleurone (**Pomeranz, 1988**). Les pentosanes (polysaccharides non amylacés) représentent quant à eux entre 2 et 3% de la matière sèche et sont les principaux constituants des parois cellulaires de l'albumen (**Pomeranz, 1988**).

Le grain de blé ou le caryopse est un fruit sec indéhiscant constitué de substances de réserves, d'amidon, environ 70%; de protéines (10%) ainsi que de fractions mineures de lipides, cellulose, minéraux et vitamines (**Feillet, 2000 ; Bewley et al., 2013**). Le poids et la composition du grain varient selon les espèces et les variétés (**Soltner, 2007**), il peut en revanche, être modifié ou amélioré par des pratiques agricoles ou les conditions de maturation (**Bewley et Black, 1994**).

Le grain se compose de trois parties distinctes (**Fig.2**)

5- 1-L'embryon (ou germe) : Il est formé de l'axe embryonnaire (où se trouve la radicule et lecolèorhize), et d'un cotylédon qui forme le scutellum. La base correspond au coléoptile (**Bewley et al., 2013**).

5-2-L'endosperme : C'est le tissu de réserve, il représente 83 à 85% du poids de la graine (Soltner, 2007). Il est de type albuminé (endospermique) pour la majorité des céréales. En plus de son rôle dans le

stockage des réserves, il assure la régulation de l'eau de l'embryon au cours de la germination (**Bewley, Black, 1994**).

5-3-Les enveloppes : Elles représentent 14 à 15% du poids du caryopse (**Soltner, 2007**). Elles sont formées de la couche à aleurone (assise protéique), de l'épiderme du nucelle ou le péricarpe, de l'épicarpe et le testa (tégument séminale).

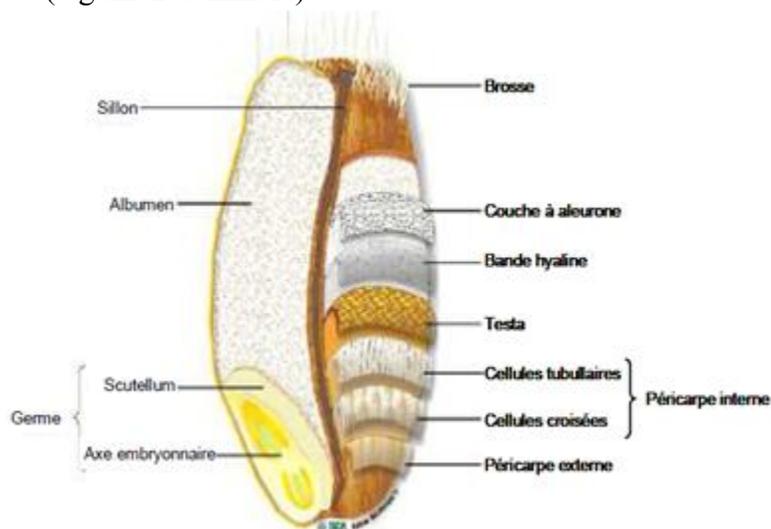


Figure 02:Histologie du grain de blé (**Surget et Barron.2005**)

Chapitre II

La Germination

II-La germination

La germination est une phase physiologique qui correspond à la transition de la phase de vie latente de la graine sèche à la phase de développement de la plantule. Le processus de germination commence dès que la graine sèche est hydratée. La prise d'eau correspond à la reprise du métabolisme (absorption de l'eau, imbibition, respiration, activités enzymatiques) d'un embryon, jusqu'à ce qu'il devienne une jeune plante autotrophe (**Beule et al, 2007**).

La germination est l'ensemble des phénomènes par lesquels les semis sont utilisés. Lorsque la vie ralentit dans la graine mûre, commence un vie active et se développe grâce aux réserves contenu dans cette dernière (**Mazoyer, 2002**). La germination commence lorsque les graines commencent à absorber l'eau, ce qui entraîne une sortie des racines (**Roget Prat, 2007**).

Suivant la conception des physiologistes, la germination commence avec l'imbibition de la graine et finit avec la percée des téguments par la radicule ou par l'hypocotyle s'il sort le premier, les étapes ultérieures étant des étapes de croissance (**Beule et al, 2007**).

Pour beaucoup d'auteurs «La germination» correspond au passage de la graine de la vie ralentie à la vie active (**Lafon et al., 1998**).

En physiologie végétale, la germination est le phénomène par lequel l'embryon croit en utilisant les réserves de la graine ce qui lui permet d'atteindre l'autotrophie (**Lafon et al, 1998**).

Selon **Copland et Mc Donald(2001)**, la germination est l'émergence de l'embryon indiquant la capacité à produire une nouvelle plantule sous des conditions favorables.

Alors que pour **Maransari et Smith (2014)**, elle correspond à un mécanisme au cours duquel des changements morphologiques et physiologiques résultant de l'activation de l'embryon s'opèrent.. le premier phénomène réside dans une imbibition de la graine c'est-à-dire une phase d'hydratation du protoplasme qui amène la teneur en eau à environ 50 à 60 % du poids frais.

Cette phase d'hydratation permet la reprise des activités métaboliques qui se manifeste très rapidement dans le début de l'imbibition(**Beule et al, 2007**).

1-Mécanismes de la germination :

Bewley et al (2013), indique que le processus de germination commence par la consommation ou l'absorption d'eau par les graines et se termine par l'émergence de l'axe embryonnaire (radicule) à travers la structure environnante. La consommation d'eau se déroule en trois étapes distinctes:

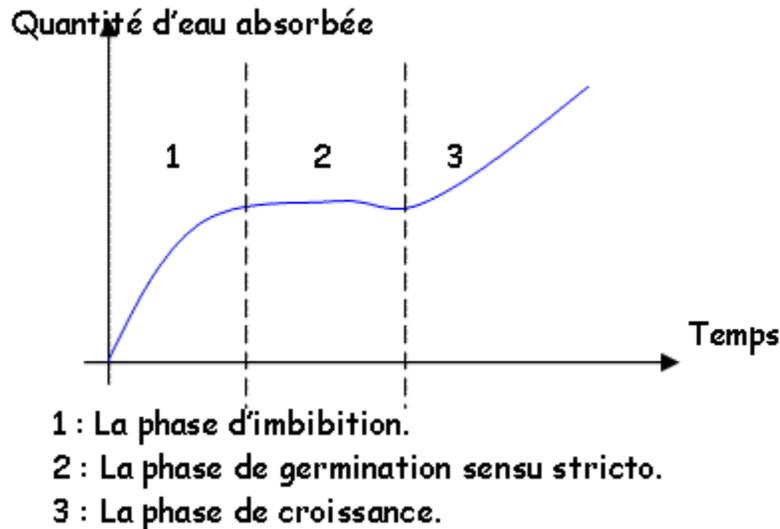


Figure 03: Courbe théorique de la germination

La première phase : c'est la phase d'imbibition de la graine qui se traduit par une augmentation régulière de l'activité respiratoire (**come, 1970 ; Mazaliak, 1982**) Marquée par une rapide et intense absorption d'eau conduisant au gonflement de la graine (**Bewley, 1997**).

La deuxième phase : c'est la germination sensu stricto elle est marquée par un arrêt de l'absorption de l'eau et une activité respiratoire régulière (**Mazaliak, 1982**). Elle s'achève avec l'émergence de la radicule hors des téguments séminaux (**Heller et al, 2004**).

La troisième phase : elle est caractérisée par une reprise de l'absorption de l'eau et une activité respiratoire de plus en plus importante due au développement de la radicule (**Mazaliak , 1982**).

D'après plusieurs auteurs, l'hydratation de la graine est accompagnée par un échange de substances, c'est le cas de l'oxygène qui suit les mêmes phases d'absorption que l'eau (**Bewley, 1997 ; Lafon et al., 1998**).

2-Conditions de la germination :

L'induction de la germination n'est possible que si certaines conditions sont respectées

2-1-L'eau

Elle est considéré comme le facteur limitant du retour à la vie active, car de petites quantités d'eau suffisent alors qu'un excès excessif peut entraîner des dommages tels que l'asphyxie du fœtus (**Lafon et al., 1998; Schmidt, 2000**).

2-2-La température

Elle agit directement sur la germination en stimulant l'activité enzymatique en accélérant les réactions chimiques (**Lafon et al ,1998; Soltner, 2007**).

Selon **Côme et Corbineau (1989)**, les grains d'albumen (blé et orge) sont difficiles à germer à des températures modérées mais germent facilement à des températures comprises entre 5 et 10°C (**Bozzini, 1988**).

D'après (**Lafon et al(1998)**), l'origine géographique de l'espèce joue un rôle dans le comportement de germination. En effet, les espèces climatiques tempérées préfèrent des températures de germination comprises entre 10°C et 20°C.

2-3- L'oxygène

Bien que de faibles niveaux soient parfois suffisants pour la plupart des espèces, l'oxygène demeure un facteur clé de la germination (**Bewley et Black, 1994; Côme et Corbineau, 1995; Copland et McDonald, 2001; Bewley et al, 2013**).

Dans les grains albumineux, **Corbineau et Côme (1995)**, montré que les graines peuvent germer avec une quantité d'oxygène inférieurs à 1%.

D'après **Lafon et al (1998)**, Indique que les apports d'oxygène dépendent fortement de l'eau et de la température : en effet, la solubilité de l'oxygène est inversement proportionnelle à la température ce qui conduit à une diminution de la solubilité d'O₂ dans l'eau à température élevée, alors que l'oxydation des composés phénoliques augmente.

2-4 La lumière

C'est un agent qui fonctionne sur les graines sensibles à la lumière. Le blé est indifférent à ce facteur (**Lafon *et al.*, 1998**).

Une foule d'autres facteurs sont impliqués dans le temps de germination mais aussi tout au long de la vie de la graine, elle exerce une influence sur le comportement de cette dernière.

En ce sens, **Chibi et Sayah (2001)**, rapporté que les pesticides résiduels dans le sol peuvent affecter négativement le processus de germination.

Chapitre III

L' α -amylase

III-L' α -amylase

L' α -amylase est une macromolécule appartenant à la classe des protéines globulaires, de type endoglycanases, de la classe des hydrolases, qui agit sur les liaisons α (1-4) de l'amidon. Son action fournit dès le début un mélange de glucose, de maltose et de dextrans. En fin de réaction elle fournit du glucose et des résidus correspondant aux liaisons α (1-6) situées aux points de ramification des chaînes (**Raimbault, 1981; Alais *et al.*, 2008**).

L' α -amylase (EC3.2.1.1) est une enzyme digestive classée comme glycosidase. Durant la germination, l'amidon de l'albumen est hydrolysé en sucres solubles réducteurs sous l'action de l' α -amylase. (**Haq *et al.*, 2002**)

Cependant, Si un grain est coupé en deux dans le sens de la largeur, seule la moitié contenant l'embryon produit des sucres réduits à partir de l'amidon; L'embryon est nécessaire à la production d' α -amylase par la «couche d'aleurone. (**Haq *et al.*, 2002**)

C'est une enzyme végétale généralement obtenue par extraction à partir des céréales, en particulier du blé, de l'orge, du son ou du riz (**Srinivasa Rao *et al.*, 2004**). Souvent, elle se forme lors de la germination des graines, qui nécessitent une activité enzymatique très importante pour le conditionnement des réserves et le développement embryonnaire (**Brawn et Kelly, 1993; Charles *et al.*, 2003**)

1-Structure des α amylase:

Les α -amylases sont considérées comme des glycoprotéines renfermant 478 acides aminés répartis en deux domaines globulaires appelés A (1-380 résidus) et B (381-478 résidus). Ces domaines sont associés par une chaîne polypeptidique constituée principalement de résidus hydrophobes. La partie glucidique est formée essentiellement de mannose. Les résidus constituant le site de fixation du substrat, ainsi que ceux constituant le site catalytique sont localisés dans le domaine A, qui montre que l' α -amylase est formée de huit feuillets β plissés et de huit hélices α (**Chiba, 1988 ; Burhan, 2003**).

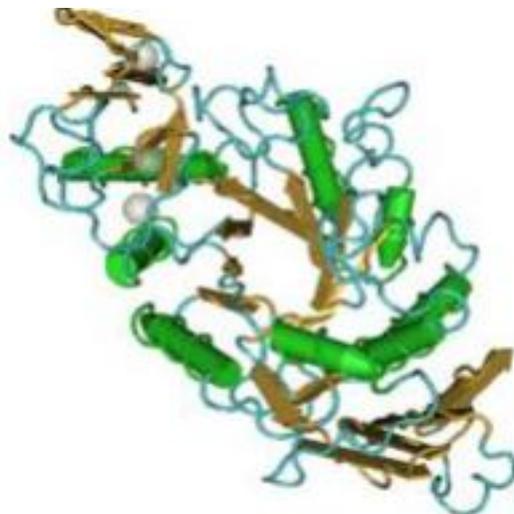


Figure 04 : représentation des structures secondaires et tertiaires de l'alpha amylase (kadziola et al ,1994).

2-Nomenclature:

Le tableau 1 récapitule les différentes nomenclatures d'α-amylase.

Tableau 01: Différentes nomenclatures d'α-amylase (Mercier, 1985).

Nom recommandé	Non codifié	Nom systématique	Synonymes
Alpha-amylase	E.C .3.2.1.1	α (1 - 4) D-glucane glucanohydrolase	glycogenase, endoamylase, maxilase, taka-amylase A, takatherm, thermolase, amylotherm, clarase, amylopsin, spitase CP1

3-Sources des α-amylases

Les α-amylases sont des enzymes produites par les plantes, les animaux et les microbes, où elles jouent un rôle dominant dans le métabolisme des glucides (Sivaramakrishnan et al, 2006).

Selon (Heller et al, 2000) l'α-amylase d'origine végétale est synthétisée dans la couche d'aleurone.

L'α-amylase d'origine végétale et microbienne est utilisée depuis des siècles comme additifs alimentaires. (Sivaramakrishnan et al, 2006).

4-L'activité alpha amylase:

Les réserves d'amidon sont maintenues tout au long de la dormance de la graine, et la dégustation de la graine permet la reprise d'activité. L'amidon se transforme en sucres que la plante utilise pour sa croissance. L'alpha-amylase est produite au cours de la germination des graines, elle dégrade les liaisons α -1-4 dans les chaînes d'amylose produites par le maltose (Charles *et al.*, 2003).

L' α -amylase est une enzyme qui décompose l'amidon. Dans la graine, elle est synthétisée par la couche d'aleurone (le siège de la couche de graine) qui est hormonalement stimulée par l'embryon. Ces enzymes contribuent à l'hydrolyse complète de l'amidon qui est un polymère de glucose et la principale forme de réserve de glucides produite par les plantes lors de la photosynthèse (Nielson *et al.*, 2001 ; Burhan, 2003).

.. L' α -amylase joue un rôle important dans le métabolisme des plantes, elle participe à l'hydrolyse de l'amidon en produisant des sucres réducteurs en dégradant les liaisons glycosidiques α (1 \rightarrow 4) au sein des chaînes d'amylose et d'amylopectine pour donner des et molécules de maltose et de glucose (α -glucose disaccharides) détectées par la Liqueur Starch de Fehling de couleur bleue par l'iode (réactif de Lodo-iodine) (Charles *et al.*, 2003 ; Badot et Merlin, 1984).

5-Mécanisme d'action

Le mécanisme d'action de l' α -amylase nécessite la participation de trois fonctions du site actif impliquant un attaquant nucléophile, un stabilisateur de la charge positive de l'atome attaqué et un donneur de proton au groupe déplacé ; ceci signifie que la rupture de la liaison osidique fait intervenir une série d'échanges d'électrons et de protons entre certains résidus de l'enzyme et du substrat. Les groupes impliqués dans la réaction du site actif sont deux acides carboxyliques et un noyau imidazole (Parkc *et al.*, 1997).

Ce mécanisme est une caractéristique de l'enzyme et selon les conditions expérimentales (température, pH, taille et structure du substrat), l'enzyme peut utiliser l'un ou l'autre des mécanismes et même une combinaison entre plusieurs mécanismes (Mazur et Nakatani, 1993 ; Nielson *et al.*, 2001):

5-1 - Attaque aléatoire: l' α -amylase hydrolyse aléatoirement les liaisons glucosidiques, libérant deux fragments, qui seront séparément attaqués.

5-2- Attaque préférée: l' α -amylase montre une préférence pour certaines liaisons dans le substrat.

5-3- Attaque répétitive: elle implique le déplacement de l'enzyme tout au long de la chaîne du substrat, pour hydrolyser les liaisons glucosidiques sans se dissocier du substrat (Berry et Paterson, 1990 ; Scriban, 1999).

Fogarty et Kelly (1980), signalent que les α -amylases sont des métallo-enzymes à calcium, vu la nécessité des ions calcium à l'activité enzymatique et au maintien de la stabilité de la structure en acides aminés de ces enzymes.

6- Influences du milieu sur l'activité des α -amylases

De nombreux facteurs physiques et chimiques sont connus pour influencer la production d'alpha-amylase, tels que la température, le pH, la période d'incubation, les sources de carbone agissant comme catalyseurs, les sources d'azote et de phosphates, divers ions métalliques et l'humidité. Les interactions de ces paramètres auront un impact significatif sur la production et l'activité de l'enzyme. (**Sivaramakrishnan et al., 2006**).

6-1 Effet de la température

L'effet de la température sur la production des α -amylases est lié à la croissance de l'organisme. La plupart des études sur la production d'amylase ont été réalisées avec un milieu fongique à une température de 25 à 37 °C(**Sivaramakrishnan et al., 2006**).

6-2 Effet du pH

Le pH est connu pour affecter la synthèse et la sécrétion de l' α -amylase, tout comme sa stabilité (**Sivaramakrishnan et al., 2006**). La stabilité de l'enzyme montre un optimum à une valeur de pH spécifiques (**Buckow et al, 2006**).

6-3 Les sources de carbone

Selon **Sivaramakrishnan et al (2006)**, des sources de carbone telles que le galactose, le glycogène et l'inuline ont été signalées comme substrats appropriés pour la production d'amylase par *B. licheniformis* et *Bacillus sp.* L'amidon et le glycérol sont connus pour augmenter la production d'enzymes

6-4- Les sources d'azote

La farine de soja s'est avérée être la meilleure source d'azote pour la production d' α -amylase par *Bacillus sp. I-3*. La peptone a augmenté l'activité enzymatique, tandis que l'extrait de levure n'a montré aucun effet sur la production d'alpha-amylase (les souches de *B. sécrètent* 0,5% de maltose avec une forte variabilité (**Sivaramakrishnan et al., 2006**).

6-5- Effet des ions métalliques

L'ajout de CaCl₂ au milieu de fermentation a augmenté la production de l'enzyme. Les résultats positifs de l'effet du CaCl₂ (0,1%) et du NaCl (0,1%) sur la production d'α-amylase ont été enregistrés en utilisant des fèves d'Amaranthus comme substrat. LiSO₄ (20 mM) et MgSO₄ (1 mM) ont augmenté la production d'α-amylase par Bacillus sp. I-3 (33,56), mais FeCl₃ et MgSO₄ ont un effet négatif sur sa production (Sivaramakrishnan et al., 2006).

6-6- Effet des métaux lourds

L'activité de l'amylase totale et en particulier l'activité de l'α-amylase a été significativement réduites par des concentrations plus élevées de Cd, ce qui est cohérent avec les effets de concentrations plus élevées de Cu²⁺, Cd²⁺ et Hg²⁺ sur la germination du riz, l'arséniate et l'arsénite sur la germination du blé (HE et al., 2010).

7-. Utilisation des α-amylases

Le tableau présente les différents domaines d'utilisation de l'α-amylases

Tableau 02 : Utilisation des amylases dans divers secteurs de l'industrie

Domaines	Utilisation
Industrie alimentaire	La production de sirops de glucose, glucose cristallisé La production de sirops de maltose Réduction de la viscosité des sirops de sucre Réduction de la formation de brume dans les jus Solubilisation et saccharification de l'amidon pour la fermentation de l'alcool dans les industries de la brasseri (Sivaramakrishnan et al., 2006)
Glucoserie	Solubilisation de l'amidon, accompagnée d'une chute importante de la viscosité (liquéfaction) (Alais et al., 2008).
Industrie du papier	Réduction de la viscosité de l'amidon pour le revêtement d'un papier approprié (Sivaramakrishnan et al., 2006)
Détergent	Utilisé comme additif pour éliminer salissures à base d'amidon
Industrie textile	Dimensionnement des fibres textiles(Sivaramakrishnan et al., 2006)
Industrie pharmaceutique	Traitement de diabète et de l'obésité (Nielson et al., 2001).

Partie expérimentale

Chapitre IV

Matériel et méthodes

Objectif de l'expérimentation

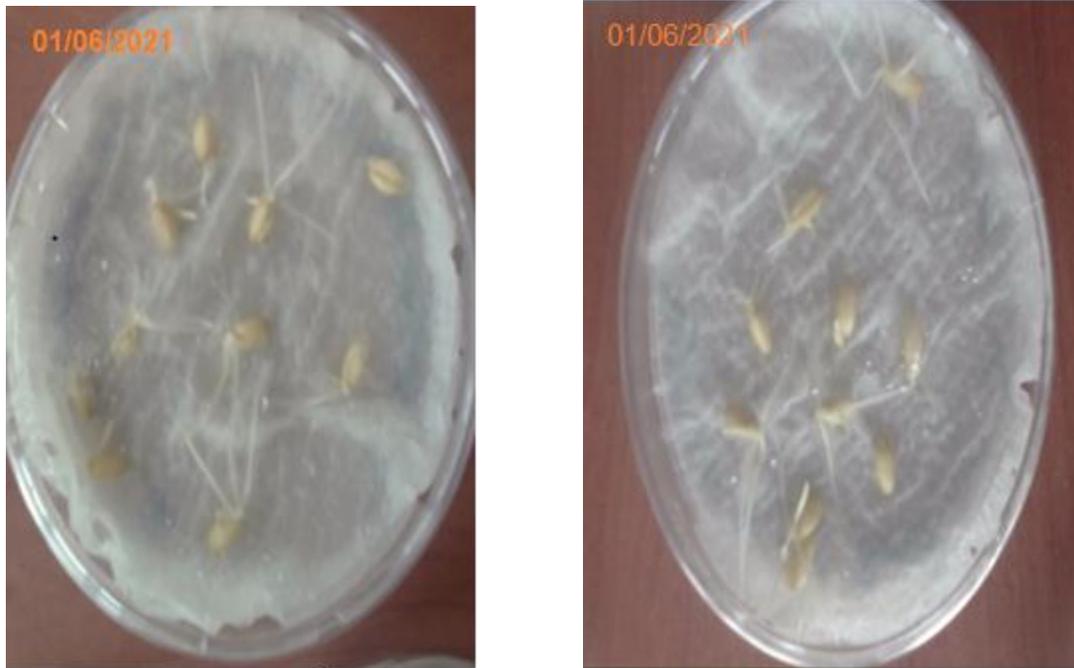
L'objectif de ce travail repose sur le dosage des alpha amylase du grain de blé au cour de la germination, basé sur les paramètres physiologiques à travers l'évolution de l'imbibition des graines et l'étude des paramètres biochimique selon l'activité enzymatiques.

1- matériel végétal

L'étude porte sur deux variétés de blé dur (**tableau03**)

Tableau03 : Caractéristiques générales des deux variétés de blé étudiées (CNCC, 2009).

	Caractéristiques		Boussallem	Mohamed Ben Bachir
Fiche Varietal	Origine		Algérie	Algérie
Désignation du caractère	Première feuille	Pigmentation anthocyanine	Nulle à très faible	Nulle à très faible
	Plante	- Porte au tallage - Présence des plantes ayant la dernière feuille retombant - Hauteur (tige, épi et barbe)	- Mi dressé à mi étalé - nulle à très Faible - Moyenne	- dressé - nulle à très Faible - Longue
	Epoque de l'épiaison	- 1er épillet visible sur 50 % des plantes	- Précoce	-Tardive
	Tige	- Pilosité du dernier noeud	- nulle à très Faible	- nulle à très faible
	Barbe	-Distribution - Couleur	- sur toute la Longueur - noire	- sur toute la longueur
	Epi	- Couleur à la maturité - Forme en vue de profil - Compacité	- Blanc - Pyramidale - Moyenne	-Faiblement Coloré - Pyramidale - Moyenne
	Graine	- Forme - Coloration au phenol	- demi allongé -nulle à très Faible	- allongé -nulle à très faible
	Type de développement		Hiver	Hiver



Mohamed ben bachir

boussallem

Figure05 : les deux variétés de blé (originale).

2-conduite de l'essai

L'expérimentation est conduite au niveau de la faculté des sciences et technologie de l'université EL -Wancharissi de Tissemsilt.

3-condition de la conduite de l'expérimentation

3-1 L'aspect physique de la germination des graines

Les graines sont désinfectées par trempage durant 5 minutes dans l'eau javellisée puis rincée deux fois à l'eau distillée.

Les graines sont mises à germer dans des boîtes de pétri stériles contenant du papier buvard stérile imbibé d'eau distillée. Chaque essai de germination est conduit en trois répétitions à température comprise entre 15 et 17°C (**Fig. 04**)

Les critères de germination retenue correspondent au moment où la radicule a percé les enveloppes.

La prise de poids des graines est effectuée chaque six heures le long de la période de germination. Des courbes d'évolution d'absorption d'eau par les graines ont été réalisées.

4- L'aspect biochimique de la germination des graines

Les différents essais entrepris dans ce volet englobent l'estimation de la réactivation de l'activité enzymatique impliquée dans la remobilisation des réserves glucidiques.

4.1. Dosage de l'activité des amylases des graines mises en germination

Au cours de la germination de la graine, l'activité des amylases est indispensable pour la remobilisation des ressources glucidiques, mises en réserve sous forme d'amidon. Les amylases catalysent l'hydrolyse de l'amidon suivant une activité progressive et libèrent des molécules de courtes chaînes osidiques pour aboutir au maltose et peu de glucose.

a) réalisation de la courbe d'étalonnage

La réduction en milieu alcalin de l'acide 3-5 dinitrosalicylique par le maltose, provoque une coloration orangée dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en glucide.

A partir d'une solution mère de maltose (1g/l) on réalise dans les tubes à essai une gamme étalon dans du tampon acétate (acide acétique, acétate de sodium 10mM, pH 4.8) à des dilutions de 1/10, 1/5, 1/3, 1/2 atteignant un volume final de 1ml. On prélève 0.5ml de chaque dilution dans des tubes à essai, à lequel on ajoute 0.5ml de réactif, constitué de 70ml NaOH (2N), 1g l'acide 3-5 dinitrosalicylique, 30g de tartrate K/Na et 100ml d'eau distillée. L'ensemble est mélangé délicatement. Les tubes sont placés dans un bain marie bouillant pendant 15mn, ensuite on les laisse refroidir. Le dosage est effectué par un spectrophotomètre à une longueur d'onde $\lambda=530\text{nm}$.

b) Extraction du complexe enzymatique

L'extraction du complexe enzymatique est produite en deux temps du processus de germination des graines, 24 et 48 heures.

Le substrat de l'extraction est constitué de 1g des graines. L'ensemble est broyé dans 20 ml de solution tampon (acide acétique et acétate de sodium) à pH 4.8 et filtré. Le filtrat est recueilli dans un tube eppendorf de 1.5 ml, puis centrifugé pendant 10 min à 8000g et à 4 °C. Le surnageant est récupéré (extrait A).

c) Dosage de l'activité des α -amylases

Prendre de chaque eppendorf 1 ml d'extrait A diluée à lequel on ajoute 0.5 ml de solution d'amidon à 1% (dilution dans la solution tampon acétate pH 4.8), passer au vortex et laisser incuber au

bain-marie à 25°C pendant 20min. Ajouter ensuite 0.5 ml du réactif contenant l'acide dinitrosalicylique permettant le dosage simultané du maltose formé. Mettre l'ensemble dans un bain-marie bouillant pendant 10 min, refroidir puis doser au spectrophotomètre à $\lambda=530\text{nm}$. Les concentrations de maltose libéré sont exprimées en $\mu\text{moles/min}$.

5- Dosage des sucres solubles

Le principe de la réaction est basé sur la condensation des produits de dégradation des oses neutres par l'acide sulfurique. Ce dernier très concentré transforme à chaud les oses en dérivés furfural qui donne une coloration bleue avec l'antrone. Les solutions d'extraction sont dosées par la méthode colorimétrique à 585 nm.

Le matériel végétal prélevé, 100mg de la graine est introduit dans un tube à essai contenant 5.25 ml d'éthanol à 80%, pendant 24 heures. 1ml est prélevé de l'extrait préalablement dilué 10 fois avec l'éthanol 80% (réactif A).

4ml de réactif composé de 2g d'antrone pur additionné à 1 litre d'acide sulfurique à (95%) (réactif B) sont ajoutées au réactif A. le réactif B est préparé 04heures à l'avance avant la réalisation de l'essai. L'ensemble est délicatement mélangé et maintenu dans la glace fondante.

Après agitation les tubes sont placés dans un bain marie à 92°C pendant 8min et ensuite le tout est refroidir pendant 30min à l'obscurité.

L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 585nm et la concentration est exprimée en mg/g de MS.

6-Estimation de la faculté germinative

Faire germer 10 graine de chaque génotype dans une boîte pétri couvert du papier filtre et imbibé. Mettre les boîtes dans une étuve à température contrôlées (25°C) et laisser germer.

Après 108 heures, les retirer pour compter le nombre de graines germés et tracer le courbe qui correspond à la variation du pouvoir germinative.

7- Traitements statistiques

Les résultats obtenus ont subi un traitement statistique par l'analyse de la variance à l'aide du logiciel SPSS.

Chapitre V

Résultats et Discussions

Résultats

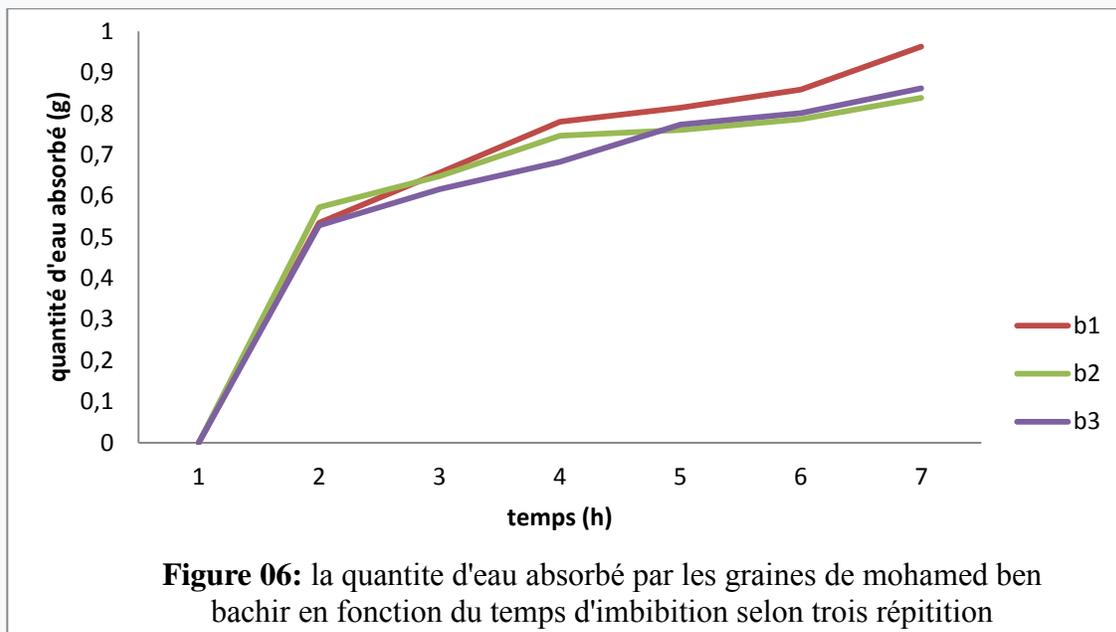
1- test d'Imbibition des graines en germination

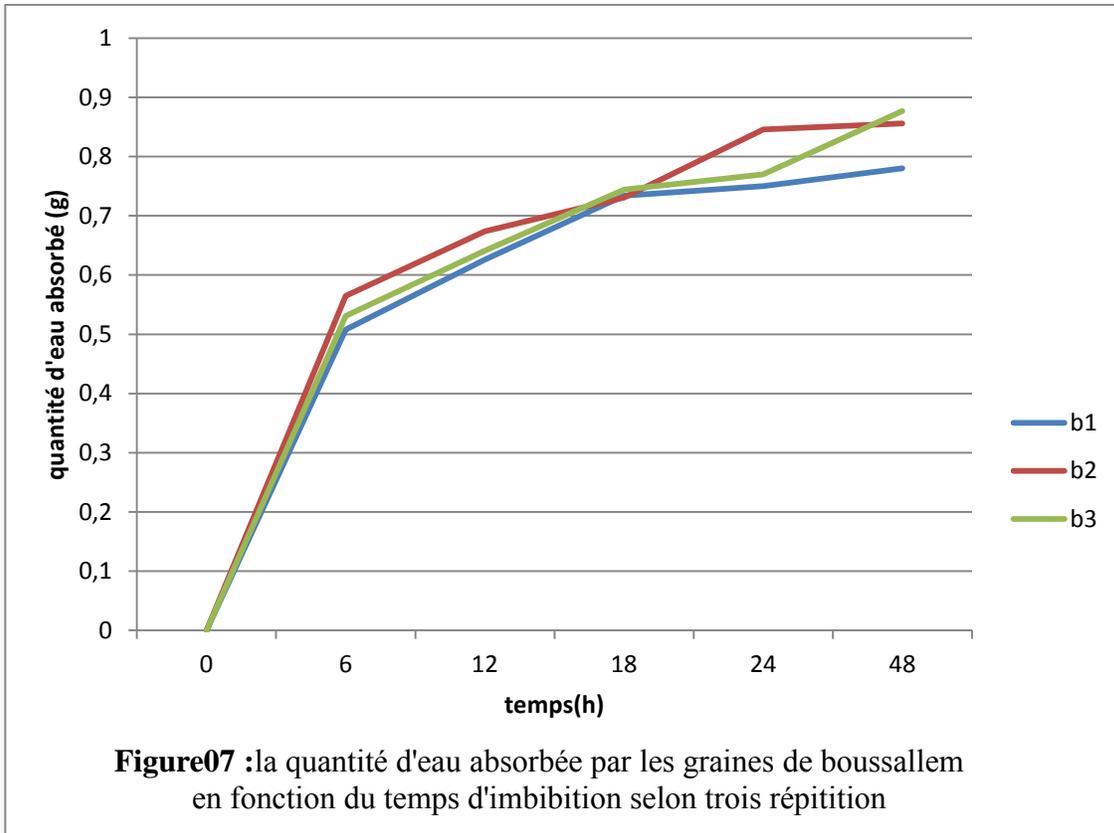
L'imbibition des graines est une étape importante pour la réalisation de la germination. Ainsi la vie latente caractéristique des différentes graines est principalement imposée par une déshydratation extrême lors de la maturation physiologique des graines.

La germination est définie généralement par une reprise des activités déclenchée par une absorption d'une quantité suffisante d'eau.

L'évaluation de l'imbibition de l'eau par les graines se fait par les mesures du poids, en fonction du temps pour tester les réponses du blé et déterminer les différentes phases de germination. Notamment la phase stricto sensu.

Selon **HELLER et al(2004)**, c'est une étape caractérisée par une stabilisation de l'absorption d'eau et une forte activité enzymatique, étape essentielle pour que la germination se produise. Elle sera également utilisée pour déterminer le moment optimal pour extraire les enzymes (alpha-amylase) et analyser son activité.





Les résultats de germination se sont déroulés suivant les courbes caractéristiques de cette étape, ainsi au cours de la période de germination on a constaté une intense absorption d'eau.

L'analyse des résultats obtenus (**fig. 6 et 7**) indique que les variations de la quantité d'eau absorbées par les graines sont fortement influencées par la nature des génotypes testés.

D'une manière générale et concernant les deux génotype testés, la prise d'eau par les graines en germination est importante au cours de la première phase du processus. Cette acuité de prise d'eau pendant cette période se limite entre 12et 48h. On note une variation dans les niveaux d'absorption d'eau à l'échelle de génotype testés.

Selon les courbes d'imbibition (**Fig6, 7**), 24 h et 48 h sont considérées comme le temps approprié pour l'extraction de l' α -amylase.

2-L'activité des α -amylase extraites des graines mises en germination

Le travail présent dans cette partie de l'étude sur le processus de décomposition des polysaccharides des graines en germination. L'objectif est d'estimer la synthèse de l'alpha-amylase et son activité. Nous utilisons 24 heures et 48 heures comme périodes idéales pour l'extraction enzymatique et l'analyse de l'activité.

2-1- activité après 24 heures de mise en germination

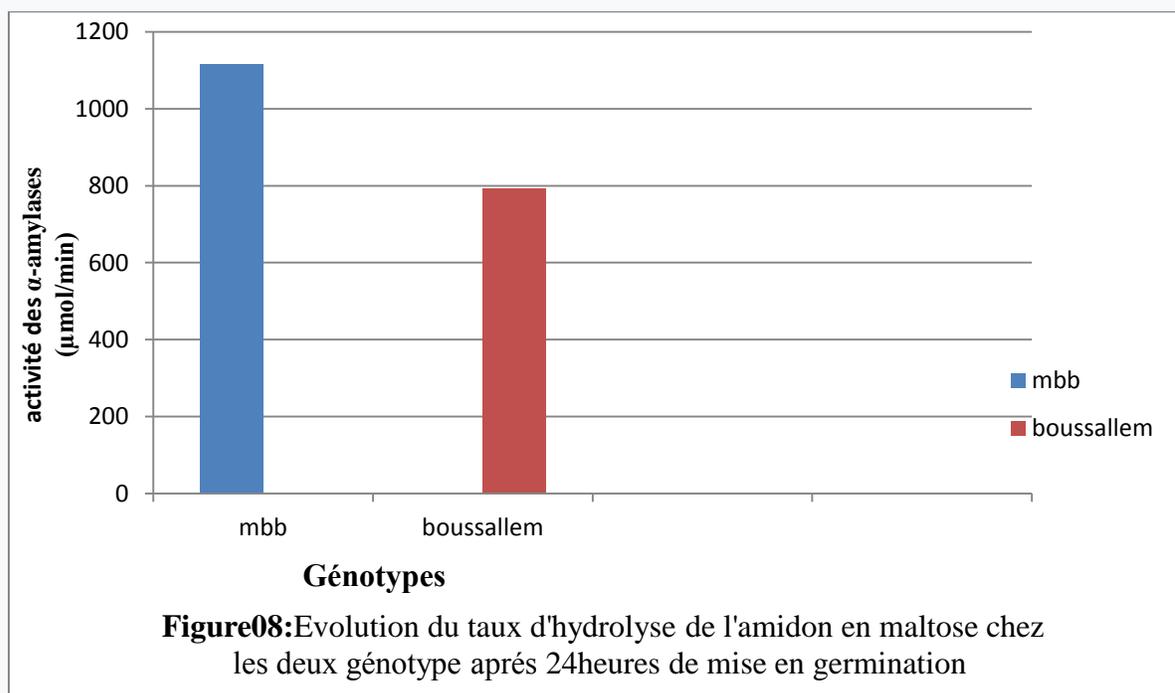
L'étude des résultats obtenus (**Tab.04**) n'affiche que la quantité de l'amidon hydrolysé en maltose après 24h que les variations de l'activité des enzymes extraites des graines en germination s'opèrent de manière dépendante des génotypes étudiés ($p < 0.01$).

Tableau 04 : Analyse de variance de l'activité des α -amylases après 24h de la mise en germination

Activité des α -amylases après 24h	Degré de liberté	F	P
Génotype	5	2,59***	0.0000

***significatif à 0.1%

Les résultats obtenus par les deux génotypes indiquent qu'il existe de simple variation de leur grandeur. (**Fig. 8**)



Chez le génotype Mohamed ben Bachir la valeur obtenue de l'activité amylasique est plus élevée avec 1115,78 μ mol/min que pour le génotype Boussallem avec 791,044 μ mol/min.

2-2- activité après 48 heures de mise en germination

A la lecture des résultats obtenus, il se démontre qu'au cours de cette période de germination, la variabilité génotypique utilisée provoque des variations notables dans le processus de l'activité des α -amylases extraites des graines ($p < 0.01$).

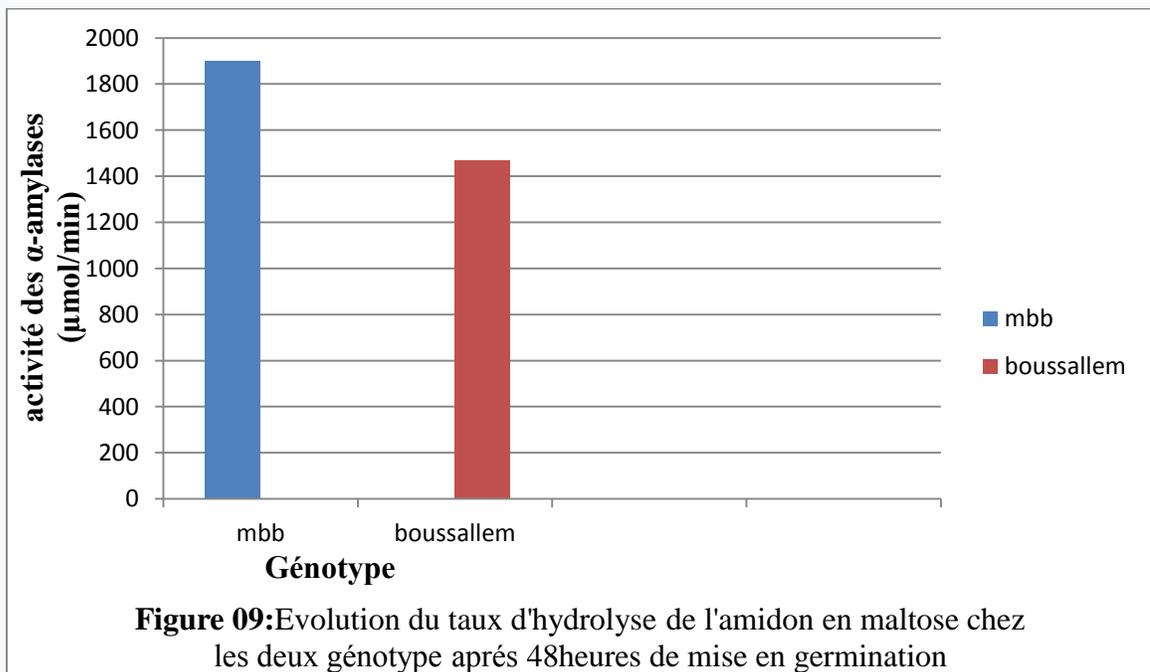
Tableau 05. Analyse de variance de l'activité des α -amylases de graines germées après 48h de la mise en germination.

Activité des α -amylases après 48h	Degré de liberté	F	P
Génotype	5	26,92**	0.00

**significatif à 1%

Au cours de cette phase de mise en germination les résultats de (**tab 05**) montrent que l'activité enzymatique est dépendante des génotypes étudiés.

La valeur la plus élevée de l'activité amylasique s'enregistre chez le génotype Mohamed ben Bachir avec 1899,64 μ mol/min contre 1468 μ mol/min pour le génotype Boussallem.



2-3- Evolution de l'activité des α -amylases en fonction du temps de mise en germination

L'évolution de l'activité des α -amylases en fonction du temps de mise en germination des graines est essentielle pour déterminer le temps optimum de l'activité enzymatique ($p < 0.01$).

Tableau 06 : analyses des résultats de l'activité amylasique en fonction du temps de mise en germination.

Sources de variation	F	P
Temps	69.7228	0.000***
Génotype x Temps	29.51	0.000***

*** significative à 0.01

L'analyse de résultats (**Tab 06**) note que l'activité des α -amylases dépend de la durée de mise en germination des graines.

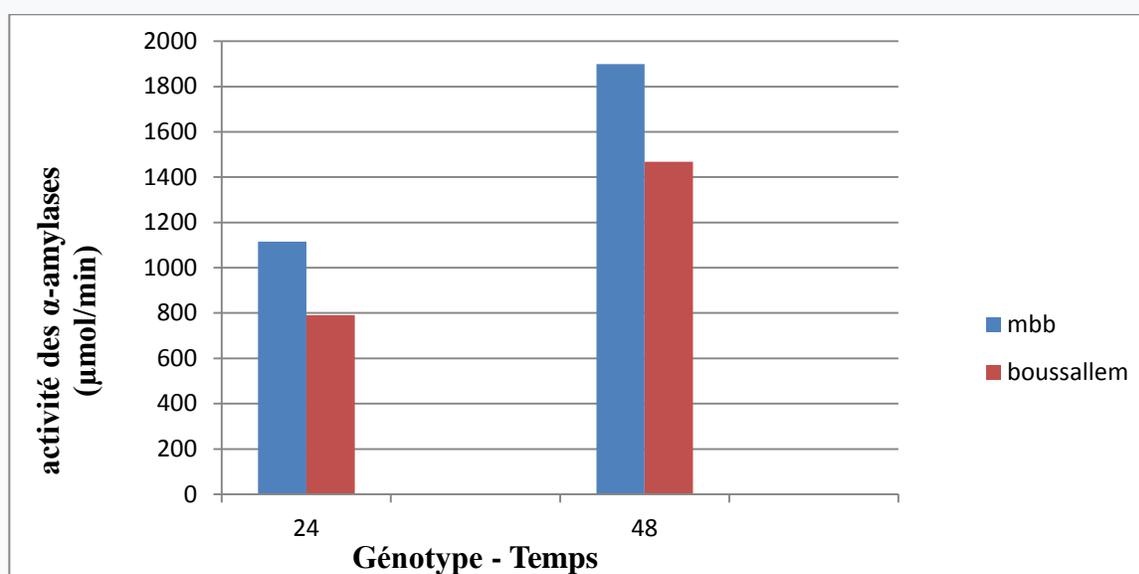


Figure10 : Evolution du taux d'hydrolyse de l'amidon en maltose chez les deux génotype après 24 et 48 heures de germination

Pour le génotype Mohamed ben Bachir, les résultats obtenus après évaluations de l'activité amylasique montre que les graines mise en germination après 48 heure enregistre une valeur plus élevée qu'après 24h respectivement (1899,64 $\mu\text{mol}/\text{min}$, 1115,78 $\mu\text{mol}/\text{min}$).

Il est de même pour le génotype Boussallem l'activité est plus intense après 48 h de mise en germination 1468 $\mu\text{mol}/\text{min}$ contre 791, 044 $\mu\text{mol}/\text{min}$ pour 24h.

On ne résulte que le génotype Mohamed ben Bachir à une activité enzymatique plus élevée que variété Boussallem après 24heure et 48 heures.

4-Taux des sucres solubles

L'analyse des résultats obtenus (**Tab 07**) montre que son élaboration est significativement conditionnée par la nature des génotypes testés ($p < 0.01$).

Tableau 07 : Effet du génotype sur le teneur en sucres solubles des graines en germination.

Taux des sucres	Degré de liberté	F	P
Génotype	9	10.97***	0.00

***significative à 1%

L'analyse des résultats obtenus des mesures de ce paramètre (**Tab 07**) montre que son élaboration est significativement conditionnée par la nature des génotypes testés.

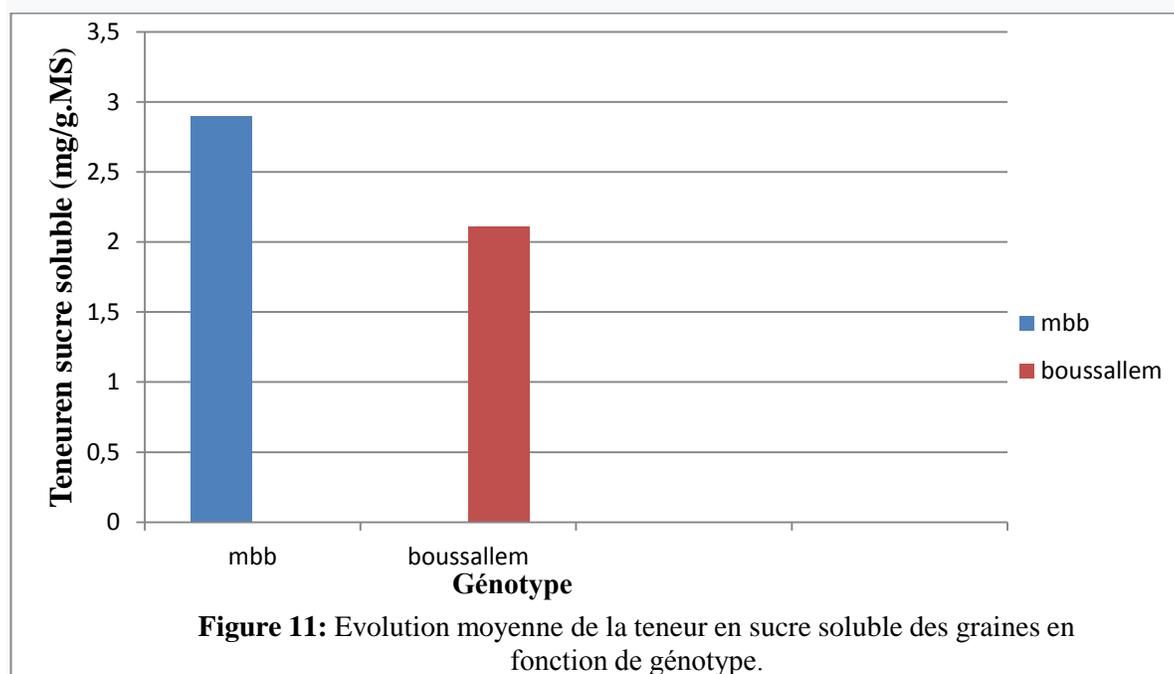
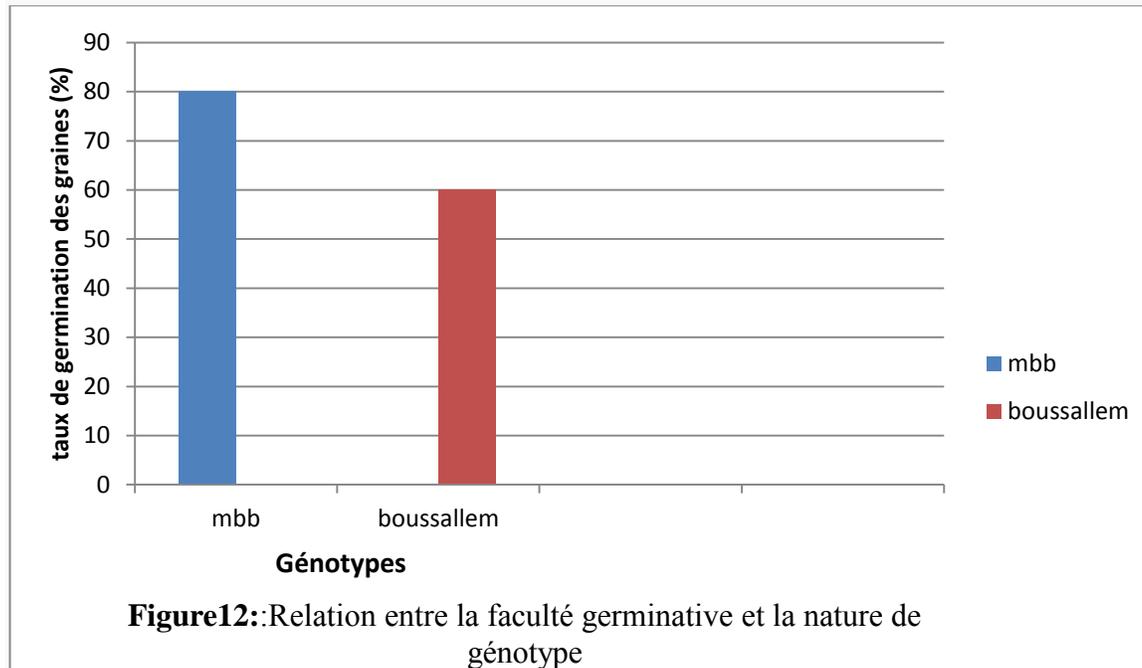


Figure 11: Evolution moyenne de la teneur en sucre soluble des graines en fonction de génotype.

Les résultats de la **figure 11** indiquent que la teneur en sucres solubles dépend de la nature du génotype étudié. Ainsi, cette dernière est plus élevée chez le génotype Mohamed ben Bachir avec 2.90 mg/g MS contre 2.11 mg/g MS pour le génotype Boussallem.

5-Estimation de faculté germinative

La faculté germinative des graines s'annonce variable en fonction de la nature de génotype expérimentée.



Les résultats obtenus indiquant que le taux de germination des graines de génotype Mohamed ben Bachir est plus élevé (80 %) contre (60 %) pour le génotype Boussallem.

Discussions

La germination des graines constitue l'une des étapes fondamentales dans la croissance et le développement des plantes. Elle représente l'une des phases critiques, dont le mode de réalisation conditionne la productivité des espèces cultivées. En effet, la qualité d'élaboration du rendement dépend étroitement du déroulement de cette étape de développement de chaque espèce (ALEI *et al*, 2010).

C'est une phase physiologique qui correspond à la transition de la phase de vie latente de la graine sèche à la phase de développement de la plantule. Le processus de germination débute par la réhydratation de la graine et s'achève par la percée de la radicule des téguments (Anzala, 2006).

Le processus d'imbibition des graines est une étape physiologique principale pour la mise en germination des graines des différentes espèces végétale (Johanson *et al*, 2000). Dans la pratique, l'imbibition des graines est évaluée par la mesure de l'évolution de leur poids. Cette dernière dépend, inévitablement de la quantité d'eau disponible (DOV, 1972 ; HOPKINS, 2003 ; ALEI *et al*, 2010)

La réalisation de la phase d'imbibition des graines semble être essentielle dans la réalisation de la germination caractérisée par l'apparition des radicules (Heldt, 2005 ; Mei et Song, 2008). Concernant le blé, l'étape de l'imbibition indique que la perméabilité membranaire est optimale dans cette étude où la prise d'eau par les graines s'est réalisées de manière efficace au niveau des deux génotypes testés. Ces résultats sont confirmés par les travaux de Hardegre et Emmeriche (1994).

La remobilisation des réserves glucidiques constitue une étape physiologique primordiale lors du processus de germination des graines amyliées (Heldt, 2005). En effet ces réserves constituent les substances énergétiques dont le produit conditionne l'activité et par conséquent assurer la croissance au niveau de l'embryon (Lotan *et al*, 1998).

Les résultats obtenus montrent que l'activité amylasique estimée par le taux de dégradation de l'amidon, est en fonction du génotype utilisé. Ainsi, le génotype Mohamed ben Bachir enregistre une activité plus importante que le génotype Boussalem, avec des valeurs de 1899,64 $\mu\text{mol/h}$ et 1115,78 $\mu\text{mol/h}$ respectivement.

La mise en germination dans deux temps différents semble avoir un effet sur l'activité amylasique. Cette dernière s'avère être plus importante après 48 heures et cela pour les deux variétés étudiées. Ces résultats se confirment par les travaux réalisés par Zemour (2014),

Les résultats obtenus indiquent que la teneur en sucres solubles varie selon la nature de génotype expérimenté ; alors que pour le génotype Mohammed ben Bachir à 4125,5 $\mu\text{mol/min}$ contre 3874 $\mu\text{mol/min}$

Une augmentation de la teneur en sucres solubles assure un rôle important varié selon la nature de génotype étudiées. Ces résultats se confirment par les travaux réalisés par Zemour (2014),

Conclusion

Conclusion

La phase de germination est considérée comme l'une des phases critiques sur laquelle repose le départ végétal, le mode de réalisation des étapes de morphogénèse ultérieure et l'élaboration du rendement des espèces végétales cultivées. Lorsque les conditions sont favorables l'embryon prend sa croissance et la graine germe. La première étape de la germination est l'absorption d'eau qui traduit une activité amylasique pour sa germination.

L'enzyme prédominante à la dégradation de l'amidon est l' α -amylase, qui est localisée au niveau de la couche d'aleurone des cellules.

Le travail présenté traite l'action des alpha amylase sur le déroulement du processus de la réhydratation de la graine(l'imbibition) et la processus métabolique à la dégradation des polysaccharides(glucose) et les sources glucidique .

Les résultats obtenus montrent que le processus d'imbibition des graines dépend de la nature du génotype.

L'activité de l'alpha amylase dans le blé varie selon le nature de génotype expérimenté.

L'extrait enzymatique former par les graines mise en germination exprime l'action de dégradation de l'amidon différencié selon la nature de génotype étudiés. Ces conclus que la nature de génotype provoque un effet sur la synthèse et la disponibilité des alpha amylase. .

Références bibliographique

- Akazawa T, Hara-Mishimura I 1985.** Topographic aspects of biosynthesis, extracellular section and intracellular storage of proteins in plant cells. *Annu Rev Plant Physiol.* ;**70**:441–472.
- Alais C., Linden G. et Miclo L., 2008.** Biochimie alimentaire, DUNOD. 6ème édition, paris, pp.67-71.
- Aleai M., Zaefizadeh M., KHAYATNEZHAD M., ALAEI Z. and ALAEI Y., 2010.** Evaluation of Germination Properties of Different Durum Wheat Genotypes under Osmotic Stress. *Islamic Azad University-Ardabil Branch, Ardabil, Iran. Middle-East Journal of Scientific Research* 6 (6): 642-646.
- Ammar, M.** Organisation de la chaine logistique dans la filière céréales en Algérie. Etat des lieux et perspectives. (Thèse de hautes études du ciheam, Institut Agronomique méditerranéen de Montpellier). 2014. 114 p.
- Anzala F.J., 2006.** Contrôle de la vitesse de germination chez le maïs (*Zea mays*) : étude de la voie de biosynthèse des acides aminés issus de l’aspartate et recherche de QTLs. Thèse Doct. Université d’Angers.148p.
- Beck E, Ziegler P 1989.** Biosynthesis and degradation of starch in higher plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.* ;**40**:95–1179
- Berry D. et Paterson A., 1990.** Enzymes in food industry. *In*: Sucking C.J. (ed.), *Enzyme chemistry impact and application.* Edition champman and hall London, 2nd edition, pp. 306 - 351.
- Bewley J.D., Black M. 1994.** Seeds: physiology of developpement germination and Dormancy, 2eme Edition, springer, New York,Plenum, PP 445.
- Bewley J.D. 1997.** Seed germination and dormancy. *Plant cell.* 9: 1055-1066.
- Bewley J.D., Bradford K., Hilhorst H.W.M., Nonogaki H. 2013.** Seeds: physiology of developpement germination and Dormancy, 3eme Edition, Springer, PP 480.
- Bill I;2007.** La biologie de A à Z : 1100 définitions,Ed .Duond Paris.PP :123.
- Bolot S., Abrouk M., Masood-Quraishi U., Stein N., Messing J., Feuillet C. and Salse J. 2009.** The “inner circle” of the cereal genomes. *Current opinion in plant biology*, 12(2):119–125.
- Bozzini A. 1988.** Origin, distribution, and production of durum wheat in the world.*In Fabriani G and Lintas C (ed). Durum: Chemistry and Technology. AACCC, Minnesota, USA. pp 1-16.*
- Brawn S.H. et Kelly R.M., 1993.** Characterization of amylolytic enzymes having both (alpha)-1,4 and (alpha)-1,6 hydrolytic activity from the thermophilic *archea Pyrococcus furiosus* and *Thermococcus litoralis* *Applied and Environmental Microbiology*; 59; (8), pp.2614-2621.

Buckow R., Weiss U., Heinz V. et Knorr D., 2006. stability and Catalytic Activity of α -amylase From Barely Malt at Different Pressure –Temperature Conditions. *Biotechnology and Bioengineering* Vol97, No1.

Chapman, G.P., 2009. Grass evolution and domestication. *Grass evolution and domestication*, xviii + 390 pp.

Charles A., Guy L. et Laurent M., 2003. *Biochimie alimentaire*, 5ème édition de l'abrégé. Dunod, Paris.

Chaussat R., Bouinot D. 1984. La prédétermination physiologique des semences de céréales. *C.R.Acad.Agric.Fr.* 5 : 679-686.

Chiba S., 1988. Amyloglycosidase. *In*. Handbook of Amylases and related enzymes (The Amylase Research Society of Japan, éd.). Pergamum Press, Oxford, U.K, pp 104-116

Chibi F., Sayah F. 2011. Endosulfan induced alterations in physiological responses in *Lycopersicon esculentum* seeds during germination. *African Journal of Agricultural Research.* 6(31):6563-6571.

CNCC, 2009. Bulletin des variétés « céréales ». Centre national de contrôle et de certification des semences et plantes. 96p.

Côme D ,1970. Les obstacles à la germination de graines .Ed. Masson et Cie., Paris : 162p.

Côme D., Corbineau F. 1989. Some aspects metabolic regulation of seed germination and dormancy. *Recent advances in development and germination.* Taylorson (ed), PP 678.

CÔME D. et CORBINEAU F., 1998. Semences et germination. *In* "Croissance et développement. Physiologie végétale II". Hermann, Paris : 185-313.

Copeland L.O., McDonald.M.B. 2001. Principles of seed science and technology, 4eme Edition, Kluwer Academic Publishers, PP 488.

Corbineau F., Côme D.1995. Control of seed germination and dormancy by the gaseous environment. *Seed développement and germination.* Edition Marcel Dekker, New York, PP 891.

DOV K., 1972. Environmental control of seed germination. 101p.

Feillet P., 2000. Le grain de blé (composition et utilisation), Ed *INRA*, P57-281.

Feldman M., ER. Sears. 1981. The wild gene resources of wheat. *Sci. Am.*244 : 98–109.

Feuillet P.2000. Le Grain de blé: composition et utilisation. Editions Quae, 2000 - 308 p.

Fogarty W. M. et Kelly, C. T., 1994. Microbial Enzymes and Biotechnology *Applied Science*, London, New York. (43):71-132.

Gate P.1995. Ecophysiologie du blé. *Technique et documentation*. Lavoisier, Paris, 351p.

Hardegre s. P. et emmerich w. E., 1994. Seed germination response to polyethylene glycol (PEG 6000) solution depth. *Seed. Sci &Technol.*, 22: 1-7.

Haq I.U., Rani S., Ashraf H. et Qadeer M.A., 2002. Biosynthesis of alpha amylase by chemically treated mutant of *Bacillus subtilis*. *J.Biol. Sci.* 2 (2), pp 73-75.

HE J., Ren y., Pan X., Yan Y.,Zhu C, et Jiang D., 2010. Salicylic acid alleviates the toxicity effect of cadmium on germination, seedling growth, and amylase activity of rice .*J.Plant Nutr .Soil Sci.*173,300-305.

Heldt H. W., 2005. Plant biochemistry. Elsevier Academic Press 2005, Elsevier Inc. 657p.

Heller R, Esnault R.et Lance C., 2000.physiologie végétale II.Développement .Ed Dunod Paris .pp64-260.

Heller R Esnault R et Lance C., 2004. Physiologie végétale TOME I : développement. Edit Duond, Paris : 645 p.

Hopkins W. G., 2003. Physiologie végétale traduction de la 2^{ème} édition américaine par SERGE RAMBOUR.Révision scientifique de CHARLE MARIE EVRARD.Edition DEBOEK Université, Bruxelles : 66-81, 237-309, 362-514.

Johansson L.,Karlsson M ., Johansson U., Larsson C. and Kjellbom P.,2000. The role of aquaporins in cellular and whole plant balance .*Biochem Biophys Acta* 1465;324-342.

Kadziola , A., Abe , J., Sevansson , B. and Haser, R .1994. Crystal and molecular structure of barely alpha-amylase. *Journal of molecular structure biology.*293(1),104-21.

Lafon J.P., Tharaud-Prayer C., Levy G. 1998. La biologie des plantes cultivées-Physiologie du développement génétique et amélioration II. 2eme Edition, Lavoisier-Technique et Documentation, PP 150.

Little A.D., 2004. Comité Biotechnologies de LEEM, 2 Novembre 2004.

Lotan T., OHTO M.A., YEE K.M., WEST M.A., LO R., KWONG R.W., YAMAGISHI K., FISHER R.L., et GOLDBERG R.B., 1998. *Arabidopsis LEAFY COTYLEDON1* is sufficient to induce embryo development in vegetative cells. *Cell*, 93: 1195-1205.

Maransari M., Smith D.L. 2014. Plant hormone and seed germination. *Environmental and Experimental Botany.* 99:110-121.

Mazaliak P ,1982 physiologie végétale II,croissance et développement . Collection Méthodes des Herman, Paris : 465p.

Mazoyer M ,2002.Larousse agricole ;Paris .P320-321.673.

Mazur A. K. et Nakatani H., 1993. Multiple attack mechanism in the porcine pancreatic amylase hydrolysis of amylose and amylopectine. *Arch. Bioch. Biophysics*. Vol., 306 (1), pp. 29-38.

Mercier C., 1985. Les enzymes amylolytiques. *In* : Mouranche A. Coste C. hydrolases et dépolymérasés. Ed Gauthier-Villars., pp.110-140.

Morvan J., 2010. Marché européen des enzymes dans les applications alimentaires.M55B.
<http://www.frost.com>.

Mouellef A.2010. Caractères physiologiques et biochimiques de tolérance du blé dur (*T. durum*Desf.) au stress hydrique. *Mémoire magister Université Constantine* 82 pages.

Naville M., 2005. La biodiversité des espèces cultivées :Analyse dans le cas du blé,
Paris: Université Paris XI, Paris, 20p.

Nielson J-E., Borchert T-V et Vriend G., 2001. The determinant of α -amylase pH-activity profiles. *Protein Engineering*. Oxford University Press. 14 (7), pp.505-512.

Park C.S., Chang C.C., Kim J.Y., Ogrydziak D.M., Ryui D.D.Y., 1997. Expression, secretion, and processing of rice Alpha-amylase in the yeast *Yarrowia lipolytica*. *J. Biol. Chem.*, 272 (11), pp.6876-6881.

Pomeranz, Y., 1988. Chemical composition of kernel structures. *Wheat: chemistry and technology*. Volume I., 97-158.

Raimbault M., 1981. Fermentation en milieu solide : Croissance de champignons filamenteux sur substrat amylicé. *Travaux et documents de L'O.R.ST.O.M*, N°127, 273p.

Roget Prat ;2007.Expérimentation en biologie et physiologie végétale ; Edit AQUA CLO INRA ,
Versailles cedex.

Scriban R. 1999. Biotechnologie. 5eme édition. Technique et Documentation. Lavoisier. Paris, pp.149-159.

Smadhi, D ; Mouhouche, B ; Zella, L ; Semiani, M. (2009). Pluviométrie et céréaliculture dans le système agro- économique de l'Algérie. *Sciences & Technologie C* -(29) .56-62 p.

Soltner D. 1990. Les grandes productions végétales : céréales, plantes sarclées, prairies. Coll. Sciences et Techniques agricoles. 17ième Ed, PP 464.

Soltner D. 2007. Les bases de la production végétales : la plante et son amélioration III. 7eme Edition, collection science et technique agricole, PP 362.

Sivaramakrishnan S., Gangadharn D., Nampoorthiri K.M., Soccol KR et Pandey A., 2006 α -amylase from microbial sources-An overview on Recent developments. Food Technol biotechnol .44(2) 173-184. ISSN 1330-9862.

Srinivasa Rao M. Reddy G. Venkateswara Rao G and Sambasiva Rao K. R.S. (2004). Studies on the extraction and characterisation of thermostable -amylase from pericarp of *Borassus indica*. *African Journal of Biotechnology*. (4), pp.289-291.

Surget, A., et Barron, C., 2005. Histologie du grain de blé, Industrie des céréales 145, 4-7.

Thierry Beule ,Yves HENRY,Aimé NATO,Alain RIVAL 2007-2017 Cahier 2
Expérimenter pour comprendre L'itinéraire pédagogique ou La pratique de la pratique pp25-31.

Zerrad W., hillali S., MATAOUI B., El antri S. et Hmyene A., 2006. Etude comparative des mécanismes biochimiques et moléculaires de résistance au stress hydrique de deux variétés de blé dur. Biochimie, Substances naturelles et environnement. Congrès international de biochimie. Agadir.

Zemour ,Kamel 2014 Etude des effets du déficit hydrique sur le processus de germination chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.).

Annexe

Tableau 01 d'imbibition des graines de Mohamed ben Bachir au cour de temps

		24h		48h			72h	
mbb	1	0.543	0.656	0.780	0.814	0.814	0.963	0.974
	2	0.572	0.648	0.746	0.760	0.760	0.838	0.853
	3	0.528	0.616	0.683	0.773	0.801	0.861	0.950

Tableau 02 d'imbibition des graines de Boussallem au cour de temps

		24h		48h			72h	
Boussallem	1	0.508	0.626	0.734	0.750	0.780	0.871	0.890
	2	0.565	0.674	0.731	0.846	0.857	0.878	0.901
	3	0.531	0.641	0.744	0.770	0.877	0.906	0.953